



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑯ Offenlegungsschrift
⑯ DE 199 60 204 A 1

⑯ Aktenzeichen: 199 60 204.2
⑯ Anmeldetag: 14. 12. 1999
⑯ Offenlegungstag: 28. 6. 2001

⑯ Int. Cl.⁷:
C 07 C 217/58

C 07 C 211/41
A 01 N 1/00
A 61 K 49/00
C 07 C 211/38
C 07 C 255/58
C 07 C 215/28
C 07 C 237/30
C 07 C 257/18
C 07 C 311/37
C 07 C 317/32
C 07 D 317/48

DE 199 60 204 A 1

⑯ Anmelder:
Aventis Pharma Deutschland GmbH, 65929
Frankfurt, DE

⑯ Erfinder:
Heinelt, Uwe, Dr., 65187 Wiesbaden, DE; Lang,
Hans Jochen, Dr., 65719 Hofheim, DE; Kleemann,
Heinz-Werner, Dr., 65474 Bischofsheim, DE;
Schwark, Jan-Robert, Dr., 65779 Kelkheim, DE;
Wirth, Klaus, Dr., 65830 Kriftel, DE; Jansen,
Hans-Willi, Dr., 65527 Niedernhausen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑯ Substituierte Norbornylamino-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung als Medikament oder Diagnostikum sowie sie enthaltendes Medikament
⑯ Substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel Ia,



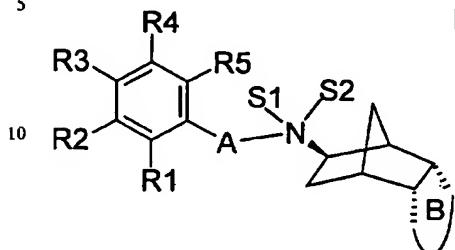
worin R1, R2, R3, R4, R5, A, B, S1 und S2 die in den Ansprüchen gegebenen Bedeutungen haben, sind hervorragend geeignet als Antihypertensiva, zur Verringerung oder Verhinderung ischämisch induzierter Schäden, als Arzneimittel für operative Eingriffe zur Behandlung von Ischämien des Nervensystems, des Schlaganfalls und des Hirnödems, des Schocks, des gestörten Atemantriebs, als Abführmittel, zur Vorbeugung gegen Gallenstein-Bildung, als Antiatherosklerotika, Mittel gegen diabetische Spätkomplikationen, Krebserkrankungen, fibrotische Erkrankungen, endotheliale Dysfunktion, Organhypertrophien und -hyperplasien. Sie sind Inhibitoren des zellulären Natrium-Protonen-Antiporters. Sie beeinflussen die Serumlipoproteine und können daher zur Prophylaxe und zur Regression von atherosklerotischen Veränderungen herangezogen werden.

DE 199 60 204 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel Ia,

5



I

15

worin bedeuten:
 A (C_1 - C_4)-Alkylen;
 S1 ein freies Elektronenpaar oder (C_1 - C_4)-Alkyl;
 S2 (C_1 - C_4)-Alkyl oder H;
 20 wobei, wenn S1 und S2 Alkyl bedeuten, X in der resultierenden Gruppierung $[-N^+(S1S2)-X^-]$ einem physiologisch akzeptablen Anion oder Trifluoracetat entspricht;
 B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring, der mit Oxo, Hydroxy, (C_1 - C_4)-Alkoxy und (C_1 - C_4)-Alkyl einfach oder mehrfach unabhängig voneinander substituiert sein kann;
 und

25 R1, R2, R3, R4 und R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO_2 , Amidino, $-CO_2R(11)$, $-CONR(11)R(12)$, $-SO_2R(11)$, $-SO_3NR(11)R(12)$, (C_1 - C_4)-Alkyl, (C_1 - C_4)-Alkoxy, (C_1 - C_4)-Alkoxy-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_1 - C_4)-Alkoxy-(C_1 - C_4)-alkyloxy, Hydroxy-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_3 - C_7)-Cycloalkoxy oder Phenyloxy,
 wobei Phenyl unsubstituiert ist oder substituiert mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander sind, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, Cl, Br und Methoxy;

30 Amino, (C_1 - C_4)-Alkylamino, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino, Amino-(C_1 - C_4)-alkyl, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_1 - C_4)-Alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl,
 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;
 R11 und R12 unabhängig voneinander H oder (C_1 - C_4)-Alkyl,
 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

35 r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

oder

R1 und R2, R2 und R3, R3 und R4 oder R4 und R5 jeweils gemeinsam eine Gruppe $-O-(CH_2)-O-$;

n 1 oder 2;

und

die jeweils verbleibenden Reste R1, R2, R3, R4 oder R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO_2 , Amidino, $-CO_2R(11)$, $-CONR(11)R(12)$, $-SO_2R(11)$, $-SO_3NR(11)R(12)$, (C_1 - C_4)-Alkyl, (C_1 - C_4)-Alkoxy, (C_1 - C_4)-Alkoxy-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_3 - C_7)-Cycloalkoxy, Hydroxy-(C_1 - C_4)-alkyl, Amino, (C_1 - C_4)-Alkylamino, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino, Amino-(C_1 - C_4)-alkyl, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_1 - C_4)-Alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl,

45 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12 unabhängig voneinander H oder (C_1 - C_4)-Alkyl,
 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

50 wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist, sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Bevorzugt sind Verbindungen mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel Ia, in der bedeuten:

A (C_1 - C_2)-Alkylen

55 S1 freies Elektronenpaar oder Methyl,

S2 H;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;

R1, R2, R3, R4 und R5 unabhängig voneinander H, Amino, Hydroxymethyl, OH, Methoxy, F, Cl, Br oder Iod;
 oder60 R2 und R3 gemeinsam $-O-CH_2-O-$; und

die verbleibenden Reste R1, R4 und R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO_2 , (C_1 - C_2)-Alkoxy, Amino, (C_1 - C_2)-Alkylamino oder Di-(C_1 - C_2)-alkylamino,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

65 wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist, sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel Ia, in der bedeuten:

A (C_1 - C_2)-Alkylen;

S1 freies Elektronenpaar;
 S2 H;
 B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;
 R1, R3 und R5 Wasserstoff; und
 R2 und R4 unabhängig voneinander H, Methoxy, F oder Cl; oder
 R2 und R3 gemeinsam -O-CH₂-O-; und
 R1, R4 und R5 Wasserstoff;
 wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist, sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Ganz besonders bevorzugt sind die folgenden Verbindungen, mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anellierte Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anellierte Fünfring der Formel Ia: 10

exo/endo-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin;
 exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(rac)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]- (octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxy-benzyl)-amin,
 exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und
 exo/exo-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin
 sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Äußerordentlich-besonders-bevorzugt-sind-die-folgenden-Verbindungen, mit exokonfiguriertem Stickstoff und endo-anellierte Fünfring der Formel I: 25

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(rac)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin, und
 exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,
 sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

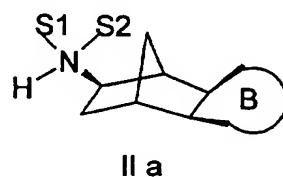
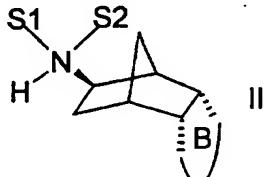
Als Säureadditionssalze kommen dabei Salze aller pharmakologisch verträglichen Säuren in Frage, beispielsweise Halogenide, insbesondere Hydrochloride, Lactate, Sulfate, Citrate, Tartrate, Acetate, Phosphate, Methylsulfonate, p-Toluolsulfonate, Adipinate, Fumarate, Gluconate, Glutamate, Glycerolphosphate, Maleinate und Pamoate. Diese Gruppe entspricht auch den physiologisch akzeptablen Anionen. 35

Enthält die Verbindung der Formel I oder Ia ein oder mehrere Asymmetriezentren, so können diese sowohl S- als auch R-konfiguriert sein. Die Verbindungen können als optische Isomere, Diastereomere, Racemate oder Gemische derselben vorliegen. Allerdings muß der Aminosubstituent exo-ständig und der Ring endobeziehungsweise exo-anelliert sein. 40

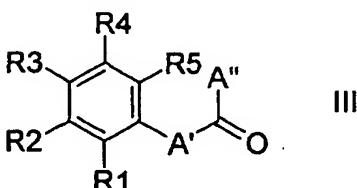
Die genannten Alkyl- oder Alkylen-Reste können sowohl geradkettig als auch verzweigt vorliegen.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I oder Ia, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Verbindung der Formel II oder IIa



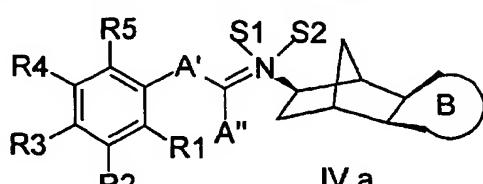
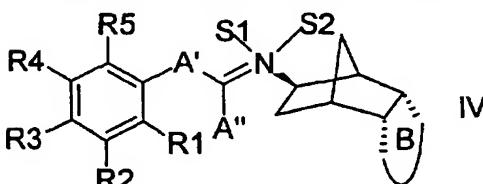
mit einer Verbindung der Formel III in Gegenwart geeigneter Reduktionsmittel und möglicherweise auch Lewis-Säuren direkt zu Verbindungen der Formel I oder Ia umsetzt, 55



worin S1, S2, B, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe soviele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A; 65

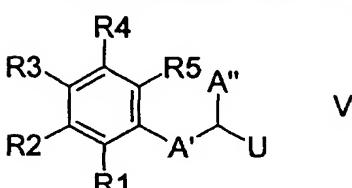
oder

b) das aus Verbindungen der Formeln II oder IIa und III gebildete Intermediat der Formel IV oder IVa



10 isoliert und dann mit geeigneten Reduktionsmitteln in die Verbindungen der Formel I oder Ia überführt,
oder

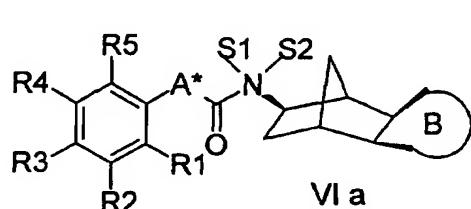
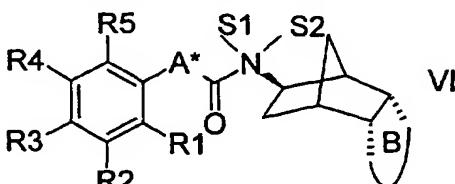
c) eine Verbindung der Formel II oder IIa mit einem Alkylierungsmittel der Formel V,



20 in der U für eine nukleophil substituierbare Gruppe steht – wie z. B. Halogen, Rest eines reaktionsfähigen Esters, quartäre Ammonium Salze – und die anderen Reste wie oben beschrieben definiert sind, aber hier dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe das Kohlenstoffatom, an das U gebunden ist, entspricht,

25 umgesetzt,
oder

30 d) Carbonsäureamide der Formel VI oder VIa



40 worin A* einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und die anderen Reste, wie oben beschrieben, definiert sind,

zu den entsprechenden Aminen reduziert;
oder

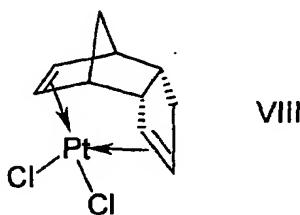
45 e) Verbindungen der Formel I oder Ia, in denen S1 einem freien Elektronenpaar und S2 Wasserstoff entspricht, mit Alkylierungsmitteln der Formel VII,

50 S*-U VII

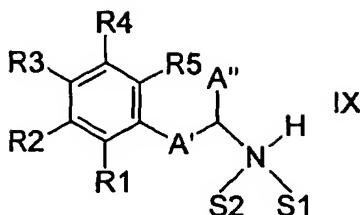
55 worin S* (C₁-C₄)-Alkyl bedeutet und U oben beschriebene Bedeutung besitzt, mono- oder dialkaliert, so daß aus dieser Umsetzung tertiäre Amine oder quartäre Ammoniumsalze hervorgehen;

oder

f) einen Dicyclopentadienylplatin-Komplex der Formel VIII



65 mit Aminen vom Typ der Formel IX,



5

10

worin S1, S2, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das das Stickstoffatom gebunden ist, soviele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A,

15

zu Verbindungen der Formel I umsetzt und anschließend das gebildete Zwischenprodukt reduziert (J. K. Stille, D. B. Fox JACS 1970 (92), 1274), und dass man gegebenenfalls in das pharmazeutisch verträgliche Salz überführt.

Die US- Patentschrift 4 024 274 (Hoe 74/F018) beschreibt Norbornylamine ähnlichen Strukturtyps, aber unbekannter räumlicher Struktur mit guter diuretischer und saluretischer Wirksamkeit.

20

Im Screening fielen aus der Vielzahl der dortigen Patentbeispiele einige Verbindungen dieses Strukturtyps überraschend als potente Inhibitoren des Natrium-Protonen-Austauschers, Subtyp 3 (NHE₃), auf. Die potenteste Verbindung wurde daraufhin auf ihre salidiuretische Wirksamkeit untersucht und überraschenderweise konnte keine salidiuretische Wirkung nachgewiesen werden, so daß ein Zusammenhang zwischen NHE₃-Aktivität und Salidiurese nicht aufgezeigt werden konnte.

25

Da die räumliche Struktur des Tricyclus nicht bekannt war, bestand die Wahl zwischen vier möglichen Enantiomerenpaaren, also insgesamt acht räumlich verschiedenen Strukturen. Bei diesen Enantiomerenpaaren zeigte sich, daß nur zwei Paare eine potente NHE₃-inhibierende Wirkung aufweisen, während die beiden anderen Enantiomerenpaare kaum NHE₃-blockierende Eigenschaften zeigen. Die Aufklärung der aktivsten Struktur durch Röntgenstrukturanalyse offenbarte, daß es sich bei dem am stärksten NHE₃-aktiven Enantiomerenpaar um Verbindungen mit definierter exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie definiert endo-anellierte Fünfring handelt. Das etwas weniger aktive Enantiomerenpaar besitzt die definierte exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie einen definiert exo-anellierten Fünfring. Die beiden verbliebenen Enantiomerenpaare mit definierter endo/exo- beziehungsweise endo/endo-Konfiguration zeigen kaum NHE₃-inhibierende Wirkung Aktivität.

30

Überraschend war weiterhin, daß die definierten getrennten Enantiomere einer der Beispieleverbindungen, die die definierte exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie den definiert endo-anellierten Fünfring aufweisen, beide ähnlich aktiv am NHE₃ sind. Aufgrund ihrer spiegelbildlichen räumlichen Anordnung war hier ein deutlicher Aktivitätsunterschied zu erwarten.

35

Gegenüber den bekannten Inhibitoren des Natrium-Protonen-Austauschers, Subtyp 3 nach EP-OS 825 178 (HOE 96/F226), die relativ polare Strukturen repräsentieren und dem Acylguanidintyp entsprechen (J.-R. Schwark et al. Eur J. Physiol (1998) 436: 797), handelt es sich bei den erfundungsgemäßen Verbindungen um überraschend lipophile Substanzen, die nicht vom Acylguanidintyp sind und die völlig neuartige Strukturen für die Inhibition des NHE₃ repräsentieren. Es handelt sich unseren Recherchen zufolge nach den soeben genannten Acylguanidinen erst um die zweite Stoffklasse von NHE₃-Inhibitoren, die bislang bekannt wurde. Gegenüber den obigen bekannten NHE₃-Inhibitoren zeichnen sie sich durch überlegene Membrangängigkeit aus.

40

Der NHE₃ wird im Körper verschiedener Spezies bevorzugt in der Galle, dem Darm und in der Niere gefunden (Larry Friegel et al. Biochem. Cell. Biol. 76: 735-741, 1998), ließ sich aber auch im Gehirn nachweisen (E. Ma et al. Neuroscience 79: 591-603).

45

Die erfundungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder Ia eignen sich zur Verwendung als Antihypertensiva für die Behandlung der primären und sekundären Hypertonie.

50

Außerdem können die Verbindungen alleine oder in Verbindung mit NHE-Inhibitoren anderer Subtypspezifität akut oder chronisch sauerstoffmangelversorgte Organe durch Verringerung oder Verhinderung ischämisch induzierter Schäden schützen. Sie eignen sich somit als Arzneimittel z. B. für operative Eingriffe (z. B. bei Organ-Transplantationen von Niere und Leber, wobei die Verbindungen sowohl für den Schutz der Organe im Spender vor und während der Entnahme, zum Schutz entnommener Organe beispielsweise bei Behandlung mit oder deren Lagerung in physiologischen Badflüssigkeiten, wie auch bei der Überführung in den Empfängerorganismus verwendet werden können) oder akutes und chronisches Nierenversagen. Besonders vorteilhaft lassen sich ischämisch induzierte Schäden am Darm vermeiden.

55

Entsprechend ihrer protektiven Wirkung gegen ischämisch induzierte Schäden sind die Verbindungen potentiell auch als Arzneimittel zur Behandlung von Ischämien des Nervensystems, insbesondere des ZNS, geeignet, wobei sie z. B. zur Behandlung des Schlaganfalls oder des Hirnödems geeignet sind. Darüber hinaus eignen sich die erfundungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder Ia ebenfalls zur Behandlung von Formen des Schocks, wie beispielweise des allergischen, cardiogenen, hypovolämischen und des bakteriellen Schocks.

60

Weiterhin induzieren die Verbindungen eine Verbesserung des Atemantriebes und werden deshalb zur Behandlung von Atmungszuständen bei folgenden klinischen Zuständen und Krankheiten herangezogen: Gestörter zentraler Atemantrieb (z. B. zentrale Schlafapnoen, plötzlicher Kindstod, postoperative Hypoxie), muskulärbedingte Atemstörungen, Atemstörungen nach Langzeitbeatmung, Atemstörungen bei Adaptation im Hochgebirge, obstruktive und gemischte Form der Schlafapnoen, akute und chronische Lungenerkrankheiten mit Hypoxie und Hyperkapnie.

65

Eine Kombination eines NHE-Inhibitoren mit einem Carboanhydrase-Hemmer (z. B. Acetazolamid), wobei letzterer eine metabolische Azidose herbeiführt und dadurch bereits die Atmungstätigkeit steigert, erweist sich als vorteilhaft

durch verstärkte Wirkung und verminderten Wirkstoffeinsatz.

Es hat sich gezeigt, daß die erfundungsgemäßen Verbindungen eine milde abführende Wirkung besitzen und demzufolge vorteilhaft als Abführmittel oder bei drohender Darmverstopfung verwendet werden können, wobei die Verhinderung der mit Verstopfungen im Darmbereich einhergehenden ischämischen Schäden besonders vorteilhaft ist.

5 Weiterhin besteht die Möglichkeit der Gallenstein-Bildung vorzubeugen.

Darüberhinaus können die erfundungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder Ia eine inhibierende Wirkung auf die Proliferationen von Zellen, beispielsweise der Fibroblasten-Zellproliferation und der Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen ausüben. Deshalb kommen die Verbindungen der Formel I oder Ia als wertvolle Therapeutika für Krankheiten in Frage, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt, und können deshalb als Antiattherosklerotika, Mittel gegen diabetische Spätkomplikationen, Krebserkrankungen, fibrotische Erkrankungen wie Lungenfibrose, Leberfibrose oder Nierenfibrose, endotheliale Dysfunktion, Organhypertrophien und -hyperplasien, insbesondere bei Prostatahyperplasie bzw. Prostatahypertrophie verwendet werden.

10 Die erfundungsgemäßen Verbindungen sind wirkungsvolle Inhibitoren des zellulären Natrium-Protonen-Antiporters der bei zahlreichen Erkrankungen (essentielle Hypertonie, Atherosklerose, Diabetes usw.) auch in solchen Zellen erhöht ist, die Messungen leicht zugänglich sind, wie beispielsweise in Erythrocyten, Thrombocyten oder Leukozyten. Die erfundungsgemäßen Verbindungen eignen sich deshalb als hervorragende und einfache wissenschaftliche Werkzeuge, beispielsweise in ihrer Verwendung als Diagnostika zur Bestimmung und Unterscheidung bestimmter Formen der Hypertonie, aber auch der Atherosklerose, des Diabetes, proliferativer Erkrankungen usw. Darüber hinaus sind die Verbindungen der Formel I oder Ia für die präventive Therapie zur Verhinderung der Genese des Bluthochdrucks, beispielweise der essentiellen Hypertonie, geeignet.

15 Es wurde außerdem gefunden, daß NHE-Inhibitoren eine günstige Beeinflussung der Serumlipoproteine zeigen. Es ist allgemein anerkannt, daß für die Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen, insbesondere der koronaren Herzkrankheit, zu hohe Blutfettwerte, sogenannte Hyperlipoproteinämien, einen wesentlichen Risikofaktor darstellen.

20 Für die Prophylaxe und die Regression von atherosklerotischen Veränderungen kommt daher der Senkung erhöhter Serum-Lipoproteine eine außerordentliche Bedeutung zu. Die erfundungsgemäßen Verbindungen können daher zur Prophylaxe und zur Regression von atherosklerotischen Veränderungen herangezogen werden, indem sie einen kausalen Risikofaktor ausschalten. Mit diesem Schutz der Gefäße gegen das Syndrom der endothelialen Dysfunktion sind Verbindungen der Formel I oder Ia wertvolle Arzneimittel zur Prävention und zur Behandlung koronarer Gefäßspasmen, der Atherogenese und der Atherosklerose, der linksventrikulären Hypertrophie und der dilatierten Kardiomyopathie, und thrombotischer Erkrankungen.

25 Die genannten Verbindungen finden deshalb vorteilhaft Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Schlafapnoen und muskulär bedingter Atemstörungen; zur Herstellung eines Medikaments zur Blutdrucksenkung, zur Herstellung eines Medikaments mit abführender Wirkung zur Prävention und Behandlung intestinaler Verstopfungen; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Erkrankungen, die durch Ischämie und Reperfusion von zentralen und peripheren Organen ausgelöst werden, wie das akute Nierenversagen, endogene Schockzustände, Darmerkrankungen etc.; zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hypercholesterinämie; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention der Atherogenese und der Atherosklerose; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Krankheiten, die durch erhöhte Cholesterinspiegel ausgelöst werden; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Krankheiten, die durch endotheliale Dysfunktion ausgelöst werden; zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der genannten Leiden in Kombinationen mit blutdrucksenkenden Stoffen, bevorzugt mit Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmern und Angiotensin-Rezeptorantagonisten. Eine Kombination eines NHE-Inhibititors der Formel I oder Ia mit einem blutfettspiegel-senkenden Wirkstoff, bevorzugt mit einem HMG-CoA-Reduktaseinhibitor (z. B. Lovastatin oder Pravastatin), wobei letzterer eine hypolipidämische Wirkung herbeiführt und dadurch die hypolipidämischen Eigenschaften des NHE-Inhibititors der Formel I oder Ia steigert, erweist sich als günstige Kombination mit verstärkter Wirkung und vermindertem Wirkstoffeinsatz.

30 Beansprucht wird die Gabe von Natrium-Protonen-Austausch-Hemmern der Formel I oder Ia als neuartige Arzneimittel zur Senkung erhöhter Blutfettspiegel, sowie die Kombination von Natrium-Protonen-Austausch-Hemmern mit blutdrucksenkenden und/oder hypolipidämisch wirkenden Arzneimitteln.

35 Arzneimittel, die eine Verbindung I oder Ia enthalten, können dabei oral, parenteral, intravenös, rektal oder durch Inhalation appliziert werden, wobei die bevorzugte Applikation von dem jeweiligen Erscheinungsbild der Erkrankung abhängig ist. Die Verbindungen I oder Ia können dabei allein oder zusammen mit galenischen Hilfsstoffen zur Anwendung kommen, und zwar sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin.

40 Welche Hilfsstoffe für die gewünschte Arzneimittelformulierung geeignet sind, ist dem Fachmann auf Grund seines Fachwissens geläufig. Neben Lösemitteln, Gelbildnern, Suppositorien-Grundlagen, Tablettenthilfsstoffen und anderen Wirkstoffträgern können beispielsweise Antioxidantien, Dispergiermittel, Emulgatoren, Entschäumer, Geschmackskorrigentien, Konservierungsmittel, Lösungsvermittler oder Farbstoffe verwendet werden.

45 Für eine orale Anwendungsform werden die aktiven Verbindungen mit den dafür geeigneten Zusatzstoffen, wie Trägerstoffen, Stabilisatoren oder inerten Verdünnungsmittel vermischt und durch die üblichen Methoden in die geeigneten Darreichungsformen gebracht, wie Tabletten, Dragees, Steckkapseln, wässrige, alkoholische oder ölige Lösungen. Als inerte Träger können z. B. Gummi arabicum, Magnesia, Magnesiumcarbonat, Kaliumphosphat, Milchzucker, Glucose oder Stärke, insbesondere Maisstärke, verwendet werden. Dabei kann die Zubereitung sowohl als Trocken- als auch als Feuchtgranulat erfolgen. Als ölige Trägerstoffe oder als Lösemittel kommen beispielsweise pflanzliche oder tierische Öle in Betracht, wie Sonnenblumenöl oder Lebertran.

50 Zur subkutanen oder intravenösen Applikation werden die aktiven Verbindungen, gewünschtenfalls mit den dafür üblichen Substanzen wie Lösungsvermittler, Emulgatoren oder weiteren Hilfsstoffen in Lösung, Suspension oder Emulsion gebracht. Als Lösungsmittel kommen z. B. in Frage: Wasser, physiologische Kochsalzlösung oder Alkohole, z. B. Ethanol, Propanol, Glycerin, daneben auch Zuckerlösungen wie Glucose- oder Mannitolösungen, oder auch eine Mischung

DE 199 60 204 A 1

aus den verschiedenen genannten Lösungsmitteln.

Als pharmazeutische Formulierung für die Verabreichung in Form von Aerosolen oder Sprays sind geeignet z. B. Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen des Wirkstoffes der Formel I oder Ia in einem pharmazeutisch unbedenklichen Lösungsmittel, wie insbesondere Ethanol oder Wasser, oder einem Gemisch solcher Lösungsmittel.

Die Formulierung kann nach Bedarf auch noch andere pharmazeutische Hilfsstoffe wie Tenside, Emulgatoren und Stabilisatoren sowie ein Treibgas enthalten. Eine solche Zubereitung enthält den Wirkstoff üblicherweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 10, insbesondere von etwa 0,3 bis 3 Gew.-%.

Die Dosierung des zu verabreichenden Wirkstoffs der Formel I oder Ia und die Häufigkeit der Verabreichung hängen von der Wirkstärke und Wirkdauer der verwendeten Verbindungen ab; außerdem auch von Art und Stärke der zu behandelnden Krankheit sowie von Geschlecht, Alter, Gewicht und individueller Ansprechbarkeit des zu behandelnden Säugers.

Im Durchschnitt beträgt die tägliche Dosis einer Verbindung der Formel I oder Ia bei einem etwa 75 kg schweren Patienten mindestens 0,001 mg/kg, vorzugsweise 1–10 mg/kg, bis höchstens 100 mg/kg Körpergewicht. Bei akuten Ausbrüchen der Krankheiten können auch noch höhere und vor allem häufigere Dosierungen notwendig sein, z. B. bis zu 4 Einzeldosen pro Tag. Insbesondere bei i. v. Anwendung, etwa bei einem Infarktpatienten auf der Intensivstation können bis zu 200 mg pro Tag notwendig werden.

Experimenteller Teil

Verwendete Abkürzungen

20

CH₂Cl₂ = Dichlormethan

25

Cl = chemische Ionisation

DIP = Dilsopropylether

EE = Ethylacetat

ES = Elektrospray

HOAc = Essigsäure

H₂O Wasser

H₂O₂ = Wasserstoffperoxid

kp = Siedepunkt

MeOH = Methanol

MgSO₄ Magnesiumsulfat

mp = Schmelzpunkt

MS = Massenspektrum

MTB = Metyl-tert.-butylether

30

NaBH₄ = Natriumborhydrid

NaHCO₃ = Natriumhydrogencarbonat

NaOH = Natriumhydroxid

RT = Raumtemperatur

THF = Tetrahydrofuran

40

TFA = Trifluoressigsäure

HCl = Salzsäure.

Synthesebeschreibung einiger Amine

45

Amin 1)

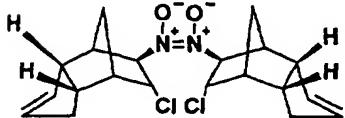
Synthese des exo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins

50



55

a1) Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazen N,N'-dioxid und Isomere



60

In eine Mischung aus 167 g Dicyclopentadien, 160 ml Eisessig und 160 ml Ethanol gab man 167 g iso-Amylnitrit und tropfte sodann unter Rühren bei -10°C 420 ml einer 15%igen Lösung von Chlorwasserstoff in Ethanol zu. Man rührte weitere 3 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Zugabe von 500 ml Diisopropylether rührte man weitere 10 Minuten und filtrierte die Kristalle ab. Nahezu farblose Kristalle, mp. 177–178°C.

65

DE 199 60 204 A 1

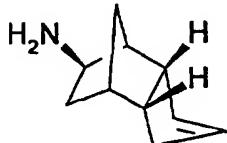
b1) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

5 Eine Suspension aus 10 g Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazon N,N'-dioxid, 60 ml Methanol und Raney-Nickel wurde über 10 Stunden bei 100°C unter 100 atm H₂-Druck hydriert. Man filtrierte den Katalysator ab, verdampfte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck, versetzte den halbkristallinen Rückstand mit Wasser und stellte durch Zugabe von 10 N NaOH stark alkalisch. Nach 3- bis 4-maligem Extrahieren mit Methyl-tert.-butylether und Trocknen der organischen Phasen über Natriumsulfat destillierte man das Lösungsmittel ab und rektifizierte das Öl im Vakuum. K_p_{5 mm} 86–91°C oder

10

a2) 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin

15



20

20 g exo-5-Isothiocyanat-5,6-dihydroendodicyclopentadien (Maybridge international) wurden in 60 ml Ameisensäure gelöst und 27 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt, 50 ml einer 20%igen wäßrigen NaOH-Lösung zugegeben und dreimal mit je 100 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 13,4 g eines blaßgelben Öls.
R_f(CH₂Cl₂/MeOH/HOAc/H₂O 32 : 8 : 1 : 1) = 0,57; MS (ES+): 150 (M+H)⁺.

b2).(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

25

12,8 g 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin wurden in 200 ml THF gelöst und bei RT mit einer Lösung von 18,7 g Di-tert-butyl-dicarbonat in 200 ml THF versetzt. Anschließend wurden 12 ml Triethylamin zuge-tropft und 2 Stunden bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit DIP chromatographiert. Man erhielt 15 g eines farblosen Öls, das aus n-Heptan kristallisierte; mp 94°C.
R_f(DIP) = 0,68 MS (Cl+): 250 (M+H)⁺.

c2) (Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

35

500 mg (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 20 ml Methanol und 2 ml Essigsäure gelöst und mit Hilfe von 200 mg Pd/C 10% (50% Wasser) unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) während 6 Stunden hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Man erhielt 470 mg eines harzähnlichen amorphen Feststoffs.
R_f(DIP) = 0,70 MS (Cl+): 252 (M+H)⁺.

40

d2) Octahydro-4,7-methanoinden-5-ylamin-Trifluoracetat

45

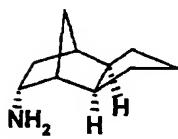
460 mg (Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 5 ml Trifluoressigsäure gelöst und 24 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt, und man erhielt 390 mg eines blaßgelben Schaums.
R_f(EE/HEP/MeOH/CH₂Cl₂/gesättigte wässrige NH₃-Lösung 10 : 5 : 5 : 5 : 1) = 0,30 MS (Cl+): 152 (M+H)⁺.

Amin 2)

Synthese des endo/exo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins

50

55

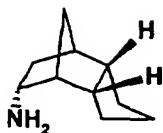


60

Eine zuvor bei 10°C mit NH₃ gesättigte Lösung aus 15 g Tricyclo[5,2,1,0^{2,6}]decen-8-on in 60 ml Methanol wurde nach Zugabe von Raney-Nickel im Autoklaven bei 90°C und einem Wasserstoffdruck von 100 bar über 10 Stunden hydriert. Nach Filtration des Katalysators und Destillation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck stellte man mit 10 N NaOH stark alkalisch und extrahierte 2-3-mal mit Ethylacetat oder mit Diisopropylether. Die vereinigten organischen Phasen wurden getrocknet und im Vakuum fraktioniert destilliert. K_p_{6-7 mm} 86–88°C.

65

Synthese des endo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins



5

10

a) 1,3a,4,6,7,7a-Hexahydro-4,7-methano-inden-5-on-oxim

10 g Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazen N,N'-dioxid aus Amin 1, a1) wurden in 75 ml Isoamylalkohol suspendiert und unter Röhren langsam auf Rückfluß erhitzt. Wenn sich alles gelöst hatte, wurde mit dem Eisbad auf Raumtemperatur abgekühlt, und es wurden 25 ml trockenes Ethanol, 12,5 ml Eisessig und 6 g Zinkstaub zugegeben. Nach einer Stunde Rückfluß wurde abgekühlt, das Zink abfiltriert und das Ethanol abgezogen. Der Rückstand wurde in 300 ml Ether eingerührt und über Nacht stehengelassen. Der Ether wurde dann vom Niederschlag abdekantiert, und dreimal mit Natriumcarbonat-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde filtriert und dann das Filtrat eingeengt. Die anschließende Vakuumdestillation lieferte 3,3 g Öl, das direkt weiter umgesetzt wurde.

15

20

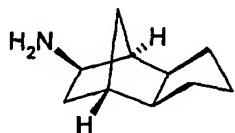
b) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

2,2 g 1,3a,4,6,7,7a-Hexahydro-4,7-methano-inden-5-on-oxim wurden in 50 ml Methanol gelöst und ca. 10% Raney-Nickel, gelöst in 50% Wasser, zugegeben. Nachdem 20 Stunden bei 100 bar und 100°C hydriert worden war, wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wurde mit Ether und 6 N Natronlauge aufgenommen, die Phasen getrennt, die wässrige Phase dreimal mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Filtrat eingeengt. Es blieben 1,8 g eines farblosen Öls zurück, das durch Kugelrohrdestillation gereinigt wurde. Es wurden 0,96 g des gewünschten Amins als Öl erhalten.

30

MS (Cl⁺): 152,2 (M+H)⁺.

Synthese des exo/exo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins



35

40

a) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ol

25 g Tricyclo[5.2.1.0(2,6)]decan-8-on (Aldrich) wurden in 100 ml Methanol gelöst und bei Raumtemperatur unter leichter Kühlung und Röhren portionsweise innerhalb von 2 h mit 6,3 g festem Natriumborhydrid versetzt. Anschließend wurde 2 h nachgerührt und über Nacht stehengelassen. Unter Kühlung wurden dann ca. 40 ml 2 N HCl zugetropft, gefolgt von 20 ml Wasser. Das Gemisch wurde eingeengt, der Rückstand mit Essigester versetzt und die Essigesterphase einmal mit Wasser und einmal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat wurde die Essigesterphase filtriert und eingeengt. Es blieben 26 g Öl zurück, das durch Vakuumdestillation gereinigt wurde. Es wurden 20,7 g einer ölichen Flüssigkeit erhalten ($k_{p,0,5}$ 76°C).

45

50

b) 2-(Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-isoindol-1,3-dion

Zu einer Lösung aus 1,66 g Octahydro-4,7-methano-inden-5-ol, 1,47 g Phthalimid und 2,62 g Triphenylphosphin in 15 ml THF wurden unter Röhren 1,7 g Diethylazodicarboxylat verdünnt mit 5 ml THF gegeben. Nach Stehen über Nacht wurde das Reaktionsgemisch eingedampft, der Rückstand mit Ether verrührt, der Niederschlag abgesaugt und das Filtrat eingeengt. Der Rückstand wird über Kieselgel/Toluol gereinigt. Es werden 1,36 g eines gelben Öls erhalten.

55

MS (Cl⁺): 282,2 (M+H)⁺.

60

c) exo/exo- Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

Zu einer Lösung aus 1,12 g 2-(Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-isoindol-1,3-dion und 15 ml Ethanol wurden 0,4 g Hydrazinhydrat getropft und 2 h bei 65°C gerührt. Anschließend wurde mit konz. HCl auf pH 1–2 gestellt, mit 10 ml Ethanol versetzt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 567 mg Produkt als Trifluoracetat erhalten. Behandlung mit Natronlauge und Essigester lieferte 322 mg des freien Amins.

65

MS (Cl⁺): 152,0 (M+H)⁺.

Beispiele

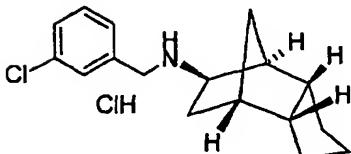
Wenn nicht anders beschrieben, handelt es sich bei den hier angeführten Beispielen um Racemate.

5

Beispiel 1

(exo/endo)-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

10



15

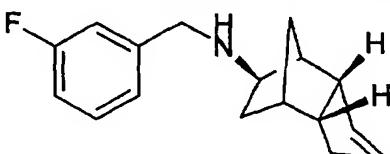
Eine Lösung aus 0,54 g des exo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins (Amin 1) und 0,562 g 3-Chlorbenzaldehyd in 20 ml Toluol werden nach Zugabe einer kleinen katalytischen Menge an p-Toluolsulfonsäure für 5 Stunden zum Sieden erhitzt, und nach dem Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdestilliert. Man löst den Rückstand in Methanol und gibt sodann unter Rühren zu der eisgekühlten gelben Lösung in kleinen Portionen 0,181 g Natriumboramat. Man röhrt mehrere Stunden bei Raumtemperatur und stellt sodann mit überschüssiger methanolischer Chlorwasserstofflösung stark sauer. Nach kurzem Rühren filtriert man den Niederschlag ab und destilliert im Filtrat das Lösungsmittel ab. Der Rückstand bildet eine farblose bis schwach gelbe kristalline Substanz, mp 241°C.

25

Beispiel 2

(exo/endo)-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin

30



35

300 mg 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin (siehe Amin 1, a2), 315 µl 3-Fluorbenzaldehyd sowie 10 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 5 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 20 ml MeOH aufgenommen, 152 mg NaBH4 zugegeben und 15 Stunden bei RT stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 200 ml EE verdünnt und zweimal mit je 50 ml einer gesättigten wäßrigen NaHCO3-Lösung gewaschen. Über MgSO4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Präparative HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (Gradient: 5 : 95–95 : 5) liefert 150 mg eines farblosen Öls.
Rf(EE) = 0,40; MS (Cl+): 258 (M+H)+.

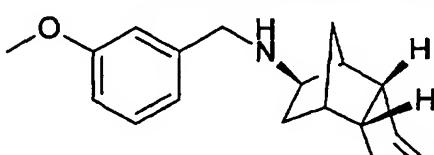
40

45

Beispiel 3

(exo/endo)-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxybenzyl)-amin

50



55

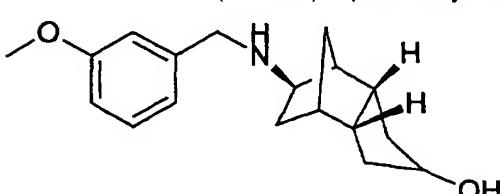
Die Verbindung des Beispiels 3 wurde analog Beispiel 2 synthetisiert.

Rf(EE) = 0,35; MS (Cl+): 270 (M+H)+.

Beispiel 4

(exo/endo)-5-(3-Methoxy-benzylamino)-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol

60



65

DE 199 60 204 A 1

a) (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

12,8 g 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin wurden in 200 ml THF gelöst und bei RT mit einer Lösung von 18,7 g Di-tert.-butyl-dicarbonat in 200 ml THF versetzt. Anschließend wurden 12 ml Triethylamin zuge-tropft und 2 Stunden bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit DIP lieferte 15 g eines farblosen Öls. Kristallisation aus n-Heptan lieferte 4,9 g farbloser Kristalle, mp 94°C. R_f(DIP) = 0,68; MS (ES+): 250 (M+H)⁺.

b) (2-Hydroxy-octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

4,87 g (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 30 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und bei RT 20 ml einer 2 M Lösung von Boran Dimethylsulfid-Komplex in Toluol zugespritzt. 24 Stunden wurde bei RT gerührt, weitere 10 ml einer 2 M Lösung von Boran Dimethylsulfid-Komplex in Toluol zugespritzt und nochmals 6 Stunden bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden anschließend im Vakuum entfernt, 200 ml CH₂Cl₂ und 33 ml einer 3 N wäßrigen NaOH-Lösung zugegeben und langsam mit 7 ml einer 30% wäßrigen H₂O₂-Lösung versetzt. 10 Minuten wurde bei RT gerührt und weitere 100 ml einer 3 N wäßrigen NaOH-Lösung sowie 20 ml einer 30% wäßrigen H₂O₂-Lösung zugegeben. Weitere 10 Minuten wurde bei RT gerührt und anschließend das Reaktionsgemisch dreimal mit je 200 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit MTB lieferte 2,9 g eines amorphen Feststoffs, der noch mit Regioisomeren verunreinigt war.

R_f(MTB) = 0,47; MS (Cl+): 268 (M+H)⁺.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

c) 5-Amino-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol-Trifluoracetat

300 mg (2-Hydroxy-octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 30 Minuten bei RT gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Man erhielt 340 mg eines harzähnlichen Feststoffs, der so weiter eingesetzt wurde.

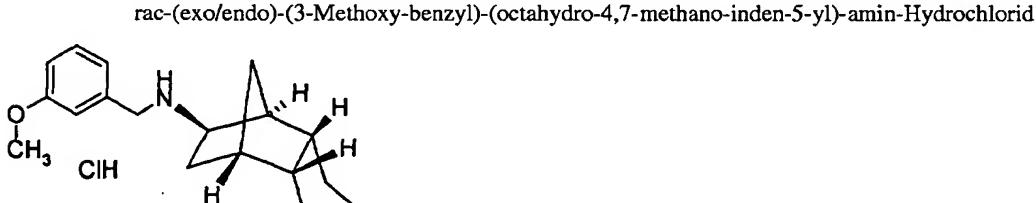
R_f(EE/HEP/MeOH/CH₂Cl₂/gesättigte wäßrige NH₃-Lösung 10 : 5 : 5 : 5 : 1) = 0,28; MS (ES+): 168 (M+H)⁺.

d) 5-(3-Methoxy-benzylamino)-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol

309 mg 5-Amino-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol-Trifluoracetat und 225 mg 3-Methoxybenzaldehyd wurden in 10 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml MeOH aufgenommen, mit 208 mg NaBH₄ versetzt und 16 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 100 ml EE verdünnt und zweimal mit je 30 ml einer 10% wäßrigen NaHCO₃-Lösung gewaschen. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit EE/MeOH 2 : 1 lieferte 100 mg eines amorphen Feststoffs.

R_f(EE/MeOH 2 : 1) = 0,20; MS (ES+): 288 (M+H)⁺.

Beispiel 5

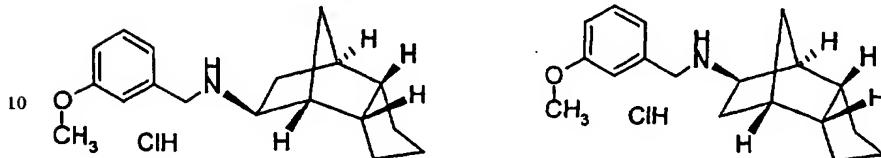


Eine Mischung aus 1,08 g 3-Methoxybenzaldehyd, 1,1 g (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1), einer katalytischen Menge p-Toluolsulfonsäure und 20 ml wasserfreiem Toluol wurde 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, das Toluol unter verminderter Druck abdestilliert und der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst. Zu dieser methanolischen Lösung fügte man in kleinen Portionen unter Kühlung 0,36 g Natriumborhydrid und rührte 18 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Zugabe einer Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol filtrierte man vom Niederschlag ab und destillierte das Lösungsmittel unter verminderter Druck ab. Man kochte den Rückstand in Ethanol, filtrierte ab und gab zum Filtrat unter Rühren 150 ml Diethylether. Man stellte mehrere Stunden in den Kühlschrank und filtrierte die kristalline Substanz ab. Farblose Kristalle, mp. 190–194°C.

Beispiel 6

(+)-(exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid und

5 (-)-(exolendo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



10 500 mg rac-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid aus Beispiel 5) wurden in mehreren Läufen auf einer präparativen Säule von Diacel Chemicals (CSP-Chiralpak-AS 250 x 25, 10 μ) getrennt. Die 15 Bedingungen waren wie folgt: Fluß: 3 ml/ min. Temperatur: 24°C, Eluentengemisch: n-Hexan/Ethanol/i-Propanol/TFA 10/11/0,1, Wellenlänge: 230 nm.

Nach Gefrier trocknung wurden erhalten:

20 (+)-Enantiomer: 198 mg, HPLC-Reinheit: 98%
(-)-Enantiomer: 218 mg, HPLC-Reinheit: 99%.

Zur Überführung ins Hydrochlorid wurden 75 mg des jeweiligen Enantiomers mit Kaliumcarbonat-Lösung und Ethylacetat versetzt und gut geschüttelt. Nach Phasentrennung wurde die wäßrige Phase noch zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde mit Ethylacetat über 5-g-Kieselgel filtriert, das Filtrat eingeengt, der Rückstand mit 2 N Salzsäure 25 versetzt und gefrier getrocknet.

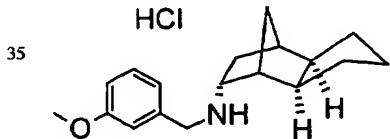
Nach Gefrier trocknung wurden erhalten:

(+)-Enantiomer: 53 mg, Drehwert: +33° (Na, 589 nm), MS (ES+): 272,2 (M+H)⁺
(-)-Enantiomer: 51 mg, Drehwert: -32°, (Na, 589 nm), MS (ES+): 272,2 (M+H)⁺.

30

Beispiel 7

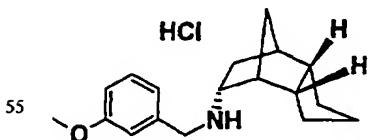
(endo/exo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



40 Eine Mischung aus 2,2 g 3-Methoxybenzaldehyd, 40 ml Methanol, 3,3 g (endo/exo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 2) und Raney-Nickelkatalysator wurde im Autoklaven bei 80°C, 60 bar Wasserstoffdruck über 6 Stunden hydriert. Man löste den Rückstand in Ethylacetat, filtrierte vom Katalysator ab, destillierte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck ab, trocknete über Natriumsulfat und vertrieb das Lösungsmittel erneut am Rotavapor. Nach Auflösen des Rückstands in wenig Ethylacetat versetzte man mit einem Überschuss an etherischer Salzsäure, aus der sich unter Rühren ein Niederschlag abschied. Farblose kristalline Substanz (aus Diisopropylether/Methanol) vom mp. 45 206–208°C.

Beispiel 8

50 (endo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

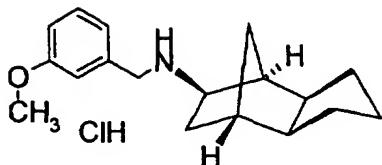


55 190 mg 3-Methoxybenzaldehyd, 211 mg (endo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 3) und 423 mg Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 5 ml trockenem CH_2Cl_2 vorgelegt. Über ein Septum wurden 0,7 ml einer 1 molaren Lösung von Titanetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 887 mg Triacetoxyborhydrid zugegeben und eine weitere Stunde gerührt. Anschließend wurden 3 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 10 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 20 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in 2 N Salzsäure gelöst und mit Ether extrahiert. Die wäßrige Phase wurde eingedampft und mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden vereinigt, das Acetonitril am Rotationsverdampfer entfernt, mit Kaliumcarbonat auf pH 11 gestellt, mit CH_2Cl_2 extrahiert, die vereinigten Phasen getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefrier getrocknet. Es wurden 10 mg des Hydrochlorids als weißer Feststoff erhalten. MS (ES+): 272,2 (M+H)⁺.

DE 199 60 204 A 1

Beispiel 9

(exo/exo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



5

10

Eine Mischung aus 150 mg 3-Methoxybenzaldehyd, 167 mg (exo/exo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 4), einer katalytischen Menge p-Toluolsulfinsäure und 15 ml wasserfreiem Toluol wurde 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, das Toluol unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 10 ml Methanol gelöst. Zu dieser methanolischen Lösung fügte man unter Eiskühlung in kleinen Portionen 50 mg Natriumborhydrid und ließ auf Raumtemperatur kommen. Nach Zugabe einer Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol filtrierte man vom Niederschlag ab und destillierte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck ab. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Das daraus nach Gefriertrocknung erhaltene Trifluoracetat wurde mittels Natronlauge/Essigester in das freie Amin überführt und dann mit 2 N HCl in das Hydrochlorid überführt. Es wurden 125 mg weißes Produkt erhalten.

15

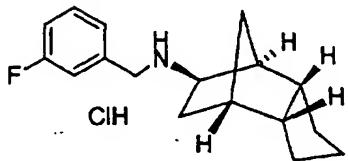
20

MS (Cl⁺): 272,2 (M+H)⁺.

Beispiel 10

(exo/endo)-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

25



30

124 mg 3-Fluorbenzaldehyd, 151 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 303 mg Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 10 ml trockenem CH₂Cl₂ vorgelegt. Über ein Septum wurden 0,5 ml einer einmolaren Lösung von Titantetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 3 ml einer einmolaren Lösung von Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min. gerührt. Anschließend wurden 5 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 15 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 25 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert (CH₂Cl₂/Methanol 97 : 3), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden vereinigt, das Acetonitril am Rotationsverdampfer entfernt, mit Kaliumcarbonat auf pH 11 gestellt, dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten Phasen getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Es wurden 144 g mg eines weißen Feststoffs erhalten.

35

40

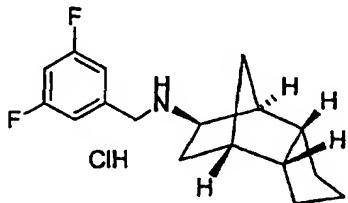
MS (Cl⁺): 260 (M+H)⁺.

45

Beispiel 11

(exo/endo)-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

50



55

200 mg 3,5-Difluorbenzaldehyd und 151 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methanoinden-5-ylamin (Amin 1) wurden in 15 ml Toluol (wasserfrei) gelöst, mit 11 mg para-Toluolsulfinsäure versetzt und 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml Methanol aufgenommen, unter Eiskühlung und Rühren mit 64 mg NaBH₄ versetzt und über Nacht stehengelassen.

60

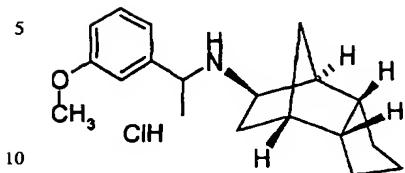
65

Die Lösung wurde mit methanolischer HCl auf pH 1-2 gestellt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und die Lösung eingeengt. Der Rückstand wurde heiß in Ethanol gelöst, filtriert und unter Rühren abgekühlt. Zugabe von Diethylether fällte das Produkt. Es wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Es wurden 212 mg eines weißen Feststoffs erhalten.

MS (Cl⁺): 278,3 (M+H)⁺.

Beispiel 12

(exo/endo)-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]-octahydro-4,7-methano-inden-5-yl-amin-Hydrochlorid

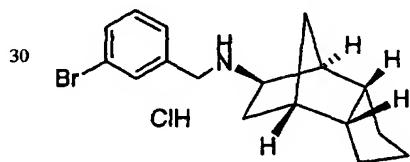


Zu einer Lösung aus 0,75 g 3-Methoxy-acetophenon und 2,7 g (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) in 15 ml n-Pentan tropfte man bei 5–10°C innerhalb von 10 Minuten eine Mischung aus 0,73 g Titanetetrachlorid und 3 ml n-Pentan. Man rührte eine weitere Stunde bei 5–10°C und ließ sodann über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Nach Filtration des Niederschlags destillierte man das Lösungsmittel am Rotavapor ab. Nun löste man den Rückstand in 20 ml Methanol und versetzte portionsweise unter Kühlung bei 5–10°C mit 0,96 g Natriumborhydrid. Die Mischung wurde 15–20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann das Lösungsmittel abdestilliert. Man versetzte den Rückstand mit Wasser, stellte mit Salzsäure sauer und behandelte extrahierend mit Ethylacetat, wobei sich Kristalle abschieden, die abfiltriert und aus wenig Wasser umkristallisiert wurden (mp. 257–259°C). Das wässrige Filtrat stellte man mit 2 N NaOH stark alkalisch, extrahierte mit Ethylacetat und destillierte das Lösungsmittel nach dem Trocknen der organischen Lösung über Natriumsulfat ab. Nach dem Auflösen des Rückstandes in wenig Ethylacetat stellte man mit einer Lösung aus Chlorwasserstoff in Diethylether stark sauer, filtrierte die Kristalle ab und kristallisierte aus wenig Wasser um (mp. 257–259°C).

25

Beispiel 13

(exo/endo)-(3-Brom-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



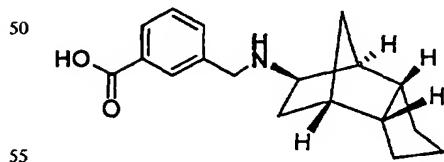
35

1,9 g 3-Brombenzaldehyd, 1,5 g (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 60 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 180 ml wasserfreiem Toluol gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand in 120 ml Methanol gelöst. 530 mg NaBH4 wurden zugegeben und 2 Stunden bei RT gerührt. 18 Stunden wurde bei RT stehen gelassen, anschließend die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Mit 200 ml einer gesättigten wässrigen NaHCO3-Lösung wurde aufgenommen und dreimal mit je 200 ml EE extrahiert. Über MgSO4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 12 ml einer 10% wässrigen HCl-Lösung aufgenommen und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 50 ml EE verrührt und man erhielt 3,0 g des kristallinen Hydrochlorids, mp 248°C.
 R_f (EE) = 0,44; MS (Cl+): 320 ($M+H$)⁺.

45

Beispiel 14

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäure



a) 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäurebutylester

60 1 g (3-Brom-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid aus Beispiel 13), 115 mg 1,3-Bis(diphenylphosphino)propan, 63 mg Pd(II)acetat sowie 4 ml Tri-n-Butylamin wurden in 10 ml 1-Butanol sowie 2 ml DMF gelöst und unter CO-Atmosphäre (Normaldruck) 8 Stunden bei 110°C gerührt. Anschließend wurden erneut 115 mg 1,3-Bis(diphenylphosphino)propan und 63 mg Pd(II)acetat zugegeben und weitere 7 Stunden bei 110°C gerührt. Nach dem Abkühlen wurden 100 ml einer gesättigten wässrigen Na2CO3-Lösung zugegeben und dreimal mit je 100 ml EE extrahiert. Über MgSO4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit DIP/2% Triethylamin lieferte 600 mg eines farblosen Öls.
 R_f (DIP/2% Triethylamin) = 0,42; MS (ES+): 342 ($M+H$)⁺.

DE 199 60 204 A 1

b) 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäure

600 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäurebutylester wurden in 1 ml n-Butanol gelöst und 2,1 ml einer 1 N wässrigen NaOH-Lösung zugegeben. 18 Stunden wurde bei RT, anschließend 4 Stunden bei 60°C gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt und zweimal mit je 5 ml Wasser n-Butanol-Reste unter vermindertem Druck azeotrop abdestilliert. Der Rückstand wurde mit 5 ml einer 10%igen wässrigen HCl-Lösung aufgenommen, die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt und zweimal mit je 5 ml Toluol das Wasser unter vermindertem Druck azeotrop abdestilliert. Das Produkt enthielt noch beträchtliche Mengen Startmaterial, daher wurde es erneut in 6 ml Methanol gelöst und mit 1 ml einer 2 N wässrigen NaOH-Lösung versetzt. 3 Stunden wurde bei RT gerührt und anschließend weitere 5 ml einer 2 N wässrigen NaOH-Lösung zugesetzt und 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt, mit 20 ml Wasser aufgenommen und mit verdünnter wässriger HCl-Lösung auf pH = 7 gestellt. 1 Stunde wurde bei RT nachgerührt, das Produkt abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Man erhielt 260 mg eines kristallinen Feststoffs, mp 258–261°C.
MS (Cl+): 286 (M+H)⁺.

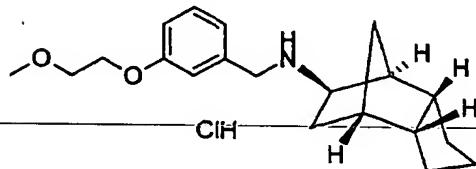
5

10

15

Beispiel 15

(exo/endo)-[3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzyl]-[octahydro-4,7-methano-inden-5-yl]-amin-Hydrochlorid



20

25

a) 3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzaldehyd

1,0 g 3-Hydroxy-benzaldehyd, 1,1 g 1-Brom-2-methoxy-ethan und 10,7 g Cs₂CO₃ wurden in 10 ml DMF (wasserfrei) 4 Stunden bei 40°C gerührt. Mit 100 ml Wasser wurde verdünnt und zweimal mit je 50 ml EE extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 1,3 g eines farblosen Öls.
R_f(DIP) = 0,24; MS (Cl+): 181 (M+H)⁺.

30

b) [3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzyl]-[octahydro-4,7-methano-inden-5-yl]-amin-Hydrochlorid

35

300 mg 3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzaldehyd, 253 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 10 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 30 ml wasserfreiem Toluol gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst. 90 mg NaBH₄ wurden zugegeben und 2 Stunden bei RT gerührt. 18 Stunden wurde bei RT stehen gelassen, anschließend die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Mit 50 ml einer gesättigten wässrigen NaHCO₃-Lösung wurde aufgenommen und dreimal mit je 50 ml EE extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 2 ml einer 10%igen wässrigen HCl-Lösung aufgenommen und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 10 ml Diethylether verrührt und man erhielt 163 mg des kristallinen Hydrochlorids, mp 134°C.
R_f(EE) = 0,30; MS (Cl+): 316 (M+H)⁺.

40

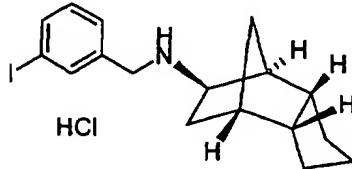
45

Beispiel 16

(exo/endo)-(3-Iod-benzyl)-[octahydro-4,7-methano-inden-5-yl]-amin-Hydrochlorid

50

55



a) 1-Brommethyl-3-Iod-benzol

60

65

4,4 g 3-Iod-toluol wurden in 10 ml Chlorbenzol gelöst und bei 132°C portionsweise mit einem Gemisch aus 3,6 g N-Bromsuccinimid und 100 mg Dibenzoylperoxid versetzt. Eine Stunde wurde bei 132°C nachgerührt, nach dem Abkühlen mit 100 ml EE verdünnt und zunächst mit 100 ml einer gesättigten wässrigen Na₂SO₃-Lösung und dann mit 100 ml einer gesättigten wässrigen Na₂CO₃-Lösung gewaschen. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 5,3 g eines blaßgelben Öls.
R_f(EE/HEP 1 : 8) = 0,44; MS (ES+): 298 (M+H)⁺.

DE 199 60 204 A 1

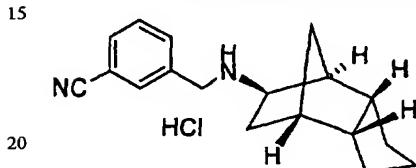
b) (3-Iod-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

755 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 830 μ l Triethylamin wurden in 20 ml wasserfreiem THF gelöst und bei 0°C langsam mit 2,8 g 1-Brommethyl-3-Iod-benzol versetzt. 30 Minuten wurde bei 0°C, anschließend 5 Tage bei RT gerührt. Dann wurden 100 ml einer gesättigten wässrigen Na_2CO_3 -Lösung zugegeben und zweimal mit je 100 ml EE extrahiert. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 20 ml Methanol gelöst und mit einer 10%igen wässrigen HCl-Lösung auf pH < 2 gestellt. Die flüchtigen Bestanteile wurden anschließend im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 10 ml EE verrührt und im Vakuum getrocknet. Man erhielt 1,74 g farbloser Kristalle, mp 220–224°C (unter Zersetzung)

MS (Cl⁺): 368 (M+H)⁺.

Beispiel 17

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-Hydrochlorid



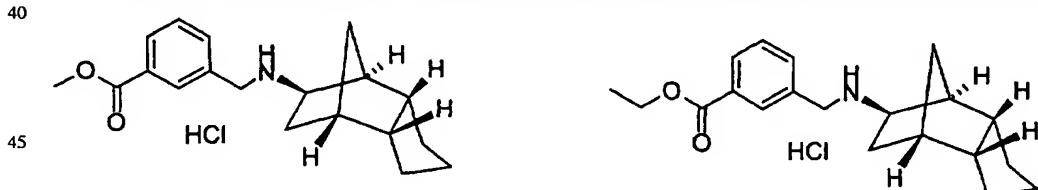
750 mg 3-Cyanobenzaldehyd, 865 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 1,74 g Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 30 ml trockenem CH_2Cl_2 vorgelegt. Über ein Septum wurden 2,86 ml einer einmolaaren Lösung von Titanatetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 17,2 ml einer einmolaaren Lösung von Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min gerührt. Anschließend wurden 20 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 60 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert (CH_2Cl_2 /Methanol 97 : 3), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung werden 1,1 g des gewünschten Produkts als weißes Pulver in Form des Trifluoracetats erhalten. 250 mg dieses Pulvers wurden, wie in Beispiel 9) beschrieben, in das Hydrochlorid überführt. Es wurden 175 mg eines weißen Feststoffs erhalten.

MS (Cl⁺): 267,3 (M+H)⁺.

Beispiel 18

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäuremethyl-ester-Hydrochlorid und

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäureethyl-ester-Hydrochlorid



a) (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidinsäureethyl-ester-Dihydrochlorid

500 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-Trifluoracetat aus Beispiel 17) wurden in 20 ml trockenem Ethanol (mit 5% Methanol und 5 Isopropanol vergällt) gelöst und unter Rühren und Eiskühlung 3 Stunden Chlorwasserstoff-Gas durch die Lösung geleitet. Über Nacht wurde bei Raumtemperatur stehengelassen und am nächsten Tag mit Stickstoff das überschüssige Chlorwasserstoff-Gas ausgetrieben und der Rückstand eingeengt. Es wurden 587 mg Benzimidinsäure-ethylester als weißes Pulver erhalten, das durch geringe Anteile Benzimidinsäure-methylester verunreinigt war.

Das Rohprodukt wurde direkt weiter umgesetzt.

b) (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäuremethyl-ester-Hydrochlorid und

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoësäureethyl-ester-Hydrochlorid

100 mg des Produktes aus a) wurden in 6 ml eines Gemisches aus Wasser und Trifluoressigsäure (5 : 1) gelöst und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Stehenlassen über Nacht wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Die dabei anfallenden Trifluoracetat-Verbindungen des Ethyl- und Methylesters wurden mit Kaliumcarbonat-Lösung aufgenommen und mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen und Abziehen des Essigesters wurde der Rückstand mit 2 N Salzsäure ver-

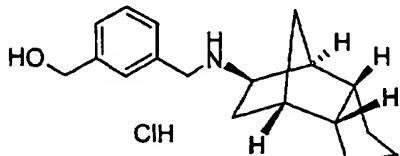
DE 199 60 204 A 1

setzt und gefriergetrocknet. Es wurden 28 mg des Ethylesters und 7 mg des Methylesters erhalten.
 Methylester: MS (ES+): 300,2 (M+H)⁺
 Ethylester: MS (ES+): 314,3 (M+H)⁺.

Beispiel 19

5

(exo/endo)-{3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-phenyl}-methanol-Hydrochlorid



10

Zu 0,43 ml einer einmolaren THF-Lösung von Lithiumaluminiumhydrid wurden unter Rühren und Feuchtigkeitsaus-
 schuß 50 mg eines in 5 ml THF gelösten Methyl-/Ethylester-Gemisches, hergestellt wie in Beispiel 18b) beschrieben,
 zugetropft. Nach Rühren bei Raumtemperatur und Stehenlassen über das Wochenende wurde unter Eiskühlung langsam
 Wasser zugetropft, der gebildete Niederschlag abgesaugt und gut mit Essigester gewaschen. Die wäßrige Phase wurde
 mit Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abfil-
 trieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18
 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Anschließend wurde, wie in Beispiel 10) beschrieben, in
 das Hydrochlorid überführt.

20

Nach Gefriergetrocknung wurden 7 mg Produkt erhalten.

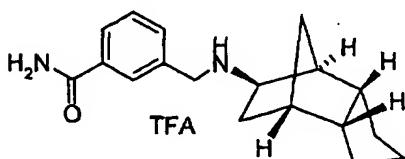
25

MS (ES+): 272,2 (M+H)⁺.

Beispiel 20

30

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzamid-Trifluoracetat



35

45 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidinsäure-ethylester-Dihydrochlorid aus Bei-
 spiel 18a) wurden 8 Stunden auf 60°C erwärmt und anschließend drei Wochen bei Raumtemperatur stehengelassen. Der
 Feststoff wurde anschließend mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) ge-
 reinigt. Nach Gefriergetrocknung wurden 4 mg des gewünschten Produkts isoliert.
 MS (ES+): 285,2 (M+H)⁺.

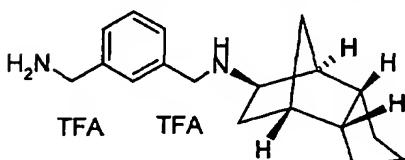
40

Beispiel 21

45

(exo/endo)-(3-Aminomethyl-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Bis-trifluoracetat

50



Zu 5 ml einer einmolaren Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in THF wurden 100 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-
 inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-Trifluoracetat aus Beispiel 17), gelöst in 5 ml trockenem THF, zugetropft. An-
 schließend wurde 5 Stunden auf 80°C erwärmt. Unter Eiskühlung wurde dann langsam Wasser zugetropft und mit Na-
 tronlauge versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Ether gewaschen. Nach Extrahieren der wäßrigen Phase
 wurden die vereinigten organischen Phasen getrocknet und anschließend das Trockenmittel abfiltriert. Nach Einengen
 wurde der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt.
 Nach Gefriergetrocknung wurden 26 mg Produkt isoliert.
 MS (ES+): 271,2 (M+H)⁺.

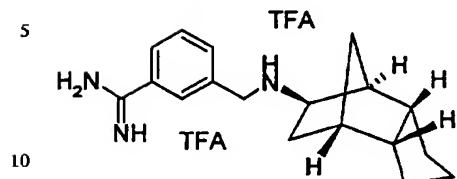
55

60

65

Beispiel 22

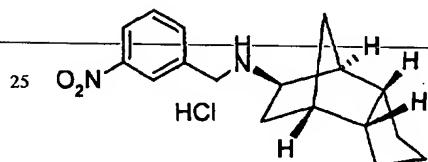
(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzamidin-Bis-trifluoracetat



200 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidinsäure-ethylester-Dihydrochlorid aus Beispiel 18a) wurden in 15 ml trockenem Ethanol gelöst und langsam ca. 20 ml Ammoniak einkondensiert. Nach 3 Stunden unter rückflüssigem Ammoniak läßt man das Ammoniak über Nacht verdampfen. Der Rückstand wird eingeengt und dann mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung werden 89 mg des gewünschten Produkts erhalten.
MS (Cl+): 284,3 (M+H)⁺.

Beispiel 23

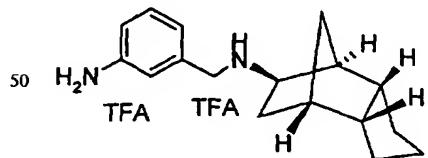
20 (exo/endo)-(3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)amin-Hydrochlorid



30 750 mg 3-Nitrobenzaldehyd, 751 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 1,5 g Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 30 ml trockenem CH₂Cl₂ vorgelegt. Über ein Septum wurden 2,48 ml einer einmolaren Lösung von Titantetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 14,89 ml einer einmolaren Lösung von Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min. gerührt. Anschließend wurden 20 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 60 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 35 50 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert (CH₂Cl₂/Methanol 95 : 5), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Ein Teil des so erhaltenen (3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Trifluoracetats wurde zwischen Essigester und Kaliumcarbonat-Lösung verteilt (pH 11). Die wässrige Phase wurde noch dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Es wurden 300 mg eines weißen Feststoffs erhalten.
MS (ES+): 287,2 (M+H)⁺.

Beispiel 24

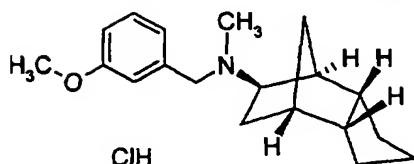
45 (exo/endo)-(3-Amino-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Bis-trifluoracetat



55 100 mg (3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Trifluoracetat aus Beispiel 23) wurden in einem Gemisch aus je 5 ml Ethanol und Eisessig gelöst. Anschließend wurden 57 mg Zinkpulver zugegeben und 4 Stunden bei 60°C gerührt. Es wurden dann weitere 25 g Zinkpulver zugegeben und nochmals zwei Stunden bei 60°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingeengt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die organische Phase dreimal mit Kaliumcarbonat-Lösung gewaschen, getrocknet, 60 filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 23 mg des gewünschten Produkts erhalten.
MS (ES+): 257,2 (M+H)⁺.

Beispiel 25

(exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-methyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



5

10

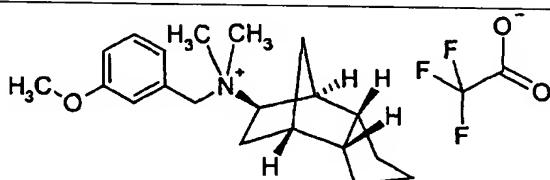
50 mg (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin aus Beispiel 5) wurden in 5 ml trockenem Aceton vorgelegt, 20 mg Kaliumcarbonat zugegeben, 30 min. gerührt und dann 9 μ l Methyljodid zugetropft. Nach Stehenlassen übers Wochenende wurde das Reaktionsgemisch eingeengt, der Rückstand mit Wasser und Ethylacetat aufgenommen, die Phasen getrennt, die wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Essigester/Heptan chromatographiert. Das erhaltene Amin wurde mit 2 N Salzsäure aufgenommen und gefriergetrocknet. Es werden 14 mg des gewünschten Produkts erhalten.
MS (Cl $+$): 286,4 (M+H) $^+$.

15

20

Beispiel 26

(exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-dimethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-ammonium-Trifluoracetat



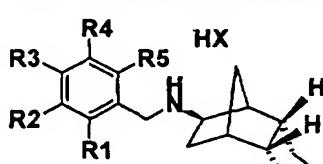
25

30

53 mg (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin aus Beispiel 5 wurden in 5 ml trockenem Aceton vorgelegt und dann 61 μ l Methyljodid zugetropft. Nach Stehenlassen übers Wochenende wurden weitere 50 μ l Methyljodid zugegeben. Nach Stehenlassen über Nacht wurden drei Tropfen N-Ethylidiisopropylamin zugegeben und weitere 5 Stunden gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriergetrocknung wurden 53 mg des gewünschten Produkts erhalten.
MS (ES $+$): 300,3 (M $^+$).

35

Die nachfolgend beschriebenen Verbindungen wurden entsprechend dem angegebenen Beispiel dargestellt:



40

45

Beispiel	analog Beispiel	R1	R2	R3	R4	R5	HX	MS
27	5	-H	-H	-OCH ₃	-H	-H	HCl	Cl $+$ (M+H) $^+$ 272,3
28	5	-OCH ₃	-H	-H	-H	-H	HCl	Cl $+$ (M+H) $^+$ 272,3

50

55

60

65

DE 199 60 204 A 1

5	29	5	-H	-OCH ₃	-H	-H	-OCH ₃	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 302,2
10	30	5	-H	-OCH ₂ O-		-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 286,2
15	31	5	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	-H	-	Cl+ (M+H) ⁺ 302,4
20	32	5	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 302,3
25	33	5	-H	-OCH ₃	-F	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 290,3
30	34	5	-H	-OH	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 258,2
35	35	10	-H	-OCF ₃	-H	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 326,2
40	36	10	-H	-OEt	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 286,3
45	37	10	-H	-OCF ₂ CF ₂ H	-H	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 358,2
50	38	10	-H	-OPr ¹	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 300,3
55	39	10	-H	-OEt	-OCH ₃	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 316,3
60									
65									

40	5	-H	-CH ₃	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 256,3
41	10	-H	-CF ₃	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 310,3
42	5	-OCH ₃	-CO ₂ CH ₃	-OCH ₃	-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 360,2
43	11	-H	-F	-F	-F	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 296,3
44	5	-H	-Cl	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 276,2
45	5	-H	-SO ₂ NH ₂	-Cl	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 355,1

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Beispiel		Analog Beispiel	MS
5	46	ClH	ES+ (M+H)+ 290,1
10	47	ClH	ES+ (M+H)+ 270,2
15	48	ClH	ES+ (M+H)+ 364,2
20	49	ClH	ES+ (M+H)+ 369,1
25	50	ClH	ES+ (M+H)+ 368,2
30	51	O ₂ N ⁺ O ⁻ TFA	ES+ (M+H)+ 333,2
35	52	TFA	ES+ (M+H)+ 402,2 (³⁵ Cl)
40			
45			
50			
55			
60			
65			

DE 199 60 204 A 1

Pharmakologische Daten

Beschreibung des Diurese-Versuchs

Methode

5

Der Salidiurese-Versuch wurde an männlichen Wistar-Ratten im Gewicht von 155 bis 175 g durchgeführt. Den Tieren wurde 16 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter, nicht jedoch das Trinkwasser, entzogen. Die Ratten wurden randomisiert in Diurese-Käfige gesetzt. Die Substanz von Beispiel 5) wurde in Trinkwasser gelöst und in einer Dosierung von 20 mg/kg Körpergewicht oral in einem Volumen von 10 ml/kg appliziert. Die Kontrollgruppe erhielt oral das entsprechende Volumen an Trinkwasser als Vehikel. Die Urinausscheidung jeder Gruppe wurde in den ersten 5 Stunden und in der Zeit von 6-24 Stunden gemessen. Die Harnelektrolyte Natrium und Kalium wurden flammenphotometrisch (Flammen-Photometer Eppendorf, Hamburg) und Chlorid potentiometrisch (Chloridmeter Eppendorf) bestimmt. Die Harnosmolalität wurde mit der Methode der Gefrierpunkterniedrigung (Osmometer Vogel, Gießen) ermittelt. Die Urin- und Elektrolytausscheidung sowie Osmolalität sind in ml/kg, mmol/kg bzw. mosmol/kg Körpergewicht angegeben. Das Verhältnis Na⁺/K⁺ lässt die Wirkqualität eines Diuretikums erkennen. Die Ergebnisse in der Tabelle repräsentieren arithmetische Mittelwerte mit Standardabweichung.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Ergebnisse

					Harn	Na	K	Cl	Osmolalität	Na/K
					ml/kg	mmol/kg			mosmol/kg	
Vehikel	Mittelwert	1 - 5- Stunden	9,73	0,26	0,48	0,38		6,48	0,61	
	SD		3,69	0,14	0,20	0,23		1,33	0,36	
	Mittelwert	6 - 24 Stunden	26,84	1,75	3,95	1,44		32,32	0,45	
	SD		6,44	0,47	0,93	0,40		7,17	0,12	
Kontrolle	Mittelwert	Summe	36,57	2,01	4,42	1,82		38,81	0,47	
	SD	1 - 24 Stunden	9,08	0,37	0,97	0,26		7,00	0,11	

Trinkwasser	Mittelwert	1 - 5- Stunden	12,39	0,31	0,75	0,60		7,82	0,47	
	SD		8,03	0,27	0,43	0,37		3,08	0,31	
	Mittelwert	6 - 24 Stunden	22,57	1,29	3,57	1,57		30,51	0,37	
	SD		6,00	0,66	0,60	0,54		5,06	0,18	
10 ml/kg KG p.o.	Mittelwert	Summe	34,96	1,60	4,31	2,17		38,33	0,38	
	SD	1 - 24 Stunden	9,14	0,64	0,61	0,41		3,47	0,16	

Beurteilung

Die Substanz von Beispiel 5) zeigte in einer Dosierung von 50 mg/kg oral an der Ratte keine salidiuretische Wirkung im Vergleich zur Kontrolle.

60

65

Beschreibung des Caco 2-Modells

Die Caco-2-Zelllinie wurde bei American Type Culture Collection (ATCC) erworben und in Dulbecco's Modified Eagle Medium (hoher Glucoseanteil), ergänzt mit nichtessentiellen Aminosäuren, L-Glutamin, Penicillin/Streptomycin und 10%igem fötalem Kälberserum, in einem Inkubator unter einer 10%igen CO₂-Atmosphäre bei 95%iger relativer Luftfeuchtigkeit und 37°C gehalten. Die Zellen wurden in Zellkulturkolben (175 cm²) gezogen.

DE 199 60 204 A 1

Für die Transport-Untersuchungen wurden die Caco-2-Zellen auf Polycarbonat Zellkultureinlagen (Costar Transwells, Porengröße: 3 µm, Fläche: 4,71 cm²) mit einer Zelldichte von $6,5 \times 10^4$ Zellen/cm² ausgesät und in Sechs-Well-Kulturplatten mit Mediumwechsel nach vier und acht Tagen und dann jedem zweiten Tag inkubiert. Für die Experimente wurden 21 bis 25 Tage alte Monoschichten verwandt.

5 In jeder Testreihe wurde eine 21 Tage alte Monoschicht mit ³H-Dextran als Permeabilitätsmarker auf ihre Eigenschaften getestet. Der Wert der Transferrate (kumulativ) mußte nach 120 min im Bereich von 2% sein.

Nach Beseitigen des Wachstumsmediums von der apicalen und der basolateralen Seite wurden die Monoschichten mit dem Transport-Puffer (Hank's balanced salt solution pH 7, 8; enthält 2,8 g/l Glucose) gespült, und die Zellen wurden 15 min bei 37°C unter 10%iger CO₂-Atmosphäre equilibriert. Danach wird der HBSS-Puffer wieder entfernt.

10 Die Testverbindungen wurden in einem Gemisch aus HBSS-Puffer und DMSO gelöst und zum apicalen Puffer gegeben, so daß eine 1%ige (VII) DMSO-Lösung resultierte. Die Testkonzentration im ersten Versuch betrug 1 mM, im zweiten 100 µM. Die Versuche wurden bei 37°C durchgeführt und mit der Zugabe von 1,5 ml Testlösung auf der Donorseite (apical) gestartet. Transport-Puffer ohne Verbindung wurde auf die Empfängerseite (basolateral, 2,5 ml) gegeben. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurden Proben von der basolateralen Seite genommen (1 ml) und durch frische 37°C warme

15 Pufferlösung ersetzt. Apicale Proben wurden zu Beginn und am Ende (120 min) genommen, um anhand dieser Konzentrationen und der kumulativen basolateralen Konzentration die Wiederfindungsrate der Verbindungen zu bestimmen.

Die Verbindungen wurden mittels HPLC analysiert.

Der scheinbare Permeabilitätskoeffizient (P_{app}) wird über folgende Gleichung berechnet:

$$20 \quad P_{app} = \frac{d_c \cdot V}{d_t \cdot A \cdot c_0}$$

25 darin bedeuten d_c/d_t den Fluß durch die Monoschicht (µg oder Verbindung/ml × s), V das Flüssigkeitsvolumen in der Auffangkammer (ml), A die Oberflächengröße der Monoschicht (cm²) und c_0 die Anfangskonzentration (µg oder Verbindung/ml) in der Donorkammer. Der Fluß durch die Monoschicht wurde aus der kumulativen basolateralen Konzentration zum entsprechende Zeitpunkt unter Zuhilfenahme der anfänglich linearen Datenkurve (linear bis zu 60 min) errechnet. Die jeweiligen Bestimmungen wurden dreifach gemacht, so daß der berechnete P_{app} -Wert den Mittelwert dreier 30 Messungen darstellt. P_{app} -Werte ausgewählter Verbindungen wurden mit literaturbekannten Absorptions-Werten korreliert und ergaben eine sigmoidale Kalibrierungskurve. Nach Untersuchungen von Artursson (Artursson P., Karlsson J.; Biochem. Biophys. Res. Comm. 1991; 175/3: 880-885) läßt sich anhand dieser Kurve eine Aussage über den absorbier-ten Anteil einer Verbindung machen.

35

40

45

50

55

60

65

Ergebnisse

		absorbiert Anteil [%]
Beispiel 5		100
Beispiel 10		100
S 3226		<5
S 2120		<1

Gegenüber den literaturbekannten NHE₃-aktiven Verbindungen vom Acylguanidin-Typ (J.-R. Schwark et al. Eur. J. Physiol (1998) 436: 797) zeigen die Verbindungen der Formel I oder Ia eine deutlich überlegene Membrangängigkeit. 55

Beschreibung der NHE-Aktivitätsmessungen

Die meisten der molekularbiologischen Techniken folgen Protokollen aus den Werken "Current Protocols in Molecular Biology (eds. Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. und Struhl, K.; John Wiley & Sons)" bzw. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, J., Fritsch, E. F. und Maniatis, T.; Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989))". 60

Im Rahmen unserer Arbeiten wurden stabil transfizierte Zelllinien erzeugt, die jeweils einen der folgenden NHE-Subtypen exprimieren: NHE1 des Menschen (Sardet et al. (1989) Cell 56, 271–280), NHE2 des Kaninchens (Tse et al. (1993) J. Biol. Chem. 268, 11917–11924), NHE3 des Menschen (Brant et al. (1995) Am. J. Physiol. 269 (Cell Physiol. 38), C198–C206) bzw. NHE3 der Ratte (Orlowski et al.; J. Biol. Chem. 267, 9331–9339 (1992)). 65

Die von Prof. Pouyssegur erhaltenen cDNA-Klonen der jeweiligen NHE-Subtypen wurden nach Anfügen geeigneter Linkersequenzen so in das Expressionsplasmid pMAMneo (erhältlich z. B. über CLONTECH, Heidelberg) einkloniert, 65

daß die Erkennungssequenz für die Restriktionsendonuklease NheI des Plasmids etwa 20–100 Basenpaare vor dem Startcodon des jeweiligen NHE-Subtyps liegt und die gesamte codierende Sequenz in dem Konstrukt vorhanden ist. Bei dem über RT-PCR aus humarer Nieren mRNA erhaltenem humanen NHE3 wurden die RT-PCR Primer so gewählt, daß die erhaltene cDNA-Bande an ihren Enden zu pMAMneo passende Schnittstellen aufweist.

5 Mit der sog. "Calciumphosphat-Methode" (beschrieben in Kapitel 9.1 von "Current Protocols in Molecular Biology") wurde die NHE-defiziente Zelllinie LAP1 (Franchi et al.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 9388–9392 (1986)) mit den Plasmiden, die die jeweiligen codierenden Sequenzen der NHE-Subtypen erhalten, transfiziert. Nach Selektion auf trans-
10 fizierte Zellen über Wachstum in G418-haltigem Medium (nur Zellen, die durch Transfektion ein neo-Gen erhalten haben, können unter diesen Bedingungen überleben) wurde auf eine funktionelle NHE-Expression selektiert. Dazu wurde die von Sardet beschriebene "Acid Load"-Technik verwendet (Sardet et al.; Cell 56, 271–280 (1989)). Zellen, die einen funktionsfähigen NHE-Subtypen exprimieren, können auch bei Abwesenheit von CO_2 und HCO_3^- die bei diesem Test vorgenommene Ansäuerung kompensieren, untransfizierte LAP1-Zellen dagegen nicht. Nach mehrmaliger Wieder-
15 holung der "Acid Load" Selektion wurden die überlebenden Zellen in Mikrotiterplatten so ausgesät, daß statistisch eine Zelle pro Well vorkommen sollte. Unter dem Mikroskop wurde nach etwa 10 Tagen überprüft, wie viele Kolonien pro Well wuchsen. Zellpopulationen aus Einzelkolonien wurden dann mit dem XTT-Proliferation Kit (Boehringer Mann-
20 heim) hinsichtlich ihrer Überlebensfähigkeit nach "Acid Load" untersucht. Die besten Zelllinien wurden für die weiteren Tests verwendet und zur Vermeidung eines Verlustes der transfizierten Sequenz unter ständigem Selektionsdruck in G418-haltigem Medium kultiviert. Zur Bestimmung von IC_{50} -Werten für die Hemmung der einzelnen NHE-Subtypen durch spezifische Substanzen wurde ein von S. Faber entwickelter Test (Faber et al.; Cell. Physiol. Biochem. 6, 39–49 (1996)), der auf der "Acid Load" Technik beruht, leicht abgewandelt.

In diesem Test wurde die Erholung des intrazellulären pHs (pH_i) nach einer Ansäuerung ermittelt, die bei funktions-
25 fähigem NHE auch unter bicarbonatfreien Bedingungen einsetzt. Dazu wurde der pH_i mit dem pH-sensitiven Fluoreszenzfarbstoff BCECF (Calbiochem, eingesetzt wird die Vorstufe BCECF-AM) bestimmt. Die Zellen wurden zunächst mit BCECF beladen. Die BCECF-Fluoreszenz wurde in einem "Ratio-Fluorescence-Spectrometer" (Photon-Technology International, South Brunswick, N. J., USA) bei Anregungswellenlängen von 505 und 440 nm und einer Emissionswelle-
30 nänge von 535 nm bestimmt und mittels Kalibrierungskurven in den pH_i umgerechnet. Abweichend von dem be-
schriebenen Protokoll wurden die Zellen bereits bei der BCECF-Beladung in NH_4Cl -Puffer (pH 7,4) inkubiert (NH_4Cl -
Puffer: 115 mM NaCl, 20 mM NH_4Cl , 5 mM KCl, 1 mM CaCl_2 , 1 mM MgSO_4 , 20 mM Hepes, 5 mM Glucose, 1 mg/ml BSA; mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,4 eingestellt). Die intrazelluläre Ansäuerung wurde durch Zugabe von 975 μl ei-
35 nes NH_4Cl -freien Puffers zu 25 μl Aliquots der in NH_4Cl -Puffer inkubierten Zellen induziert. Die nachfolgende Ge-
schwindigkeit der pH-Erholung wurde bei NHE1 2 Minuten, bei NHE2 5 Minuten und bei NHE3 3 Minuten registriert.
Für die Berechnung der inhibitorischen Potenz der getesteten Substanzen wurden die Zellen zunächst in Puffern unter-
sucht, bei denen eine vollständige bzw. überhaupt keine pH-Erholung stattfand. Zur vollständigen pH-Erholung (100%) wurden die Zellen in Na^+ -haltigem Puffer inkubiert (133,8 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl_2 , 1,25 mM MgCl_2 ,
40 0,97 mM Na_2HPO_4 , 0,23 mM NaH_2PO_4 , 5 mM Hepes, 5 mM Glucose, mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,0 eingestellt). Für die Bestimmung des 0%-Wertes wurden die Zellen in einem Na^+ -freien Puffer inkubiert (133,8 mM Cholinchlorid, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl_2 , 1,25 mM MgCl_2 , 0,97 mM K_2HPO_4 , 0,23 mM KH_2PO_4 , 5 mM Hepes, 5 mM Glucose, mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,0 eingestellt). Die zu testenden Substanzen wurden in dem Na^+ -haltigen Puffer ange-
setzt. Die Erholung des intrazellulären pHs bei jeder getesteten Konzentration einer Substanz wurde in Prozent der ma-
ximalen Erholung ausgedrückt. Aus den Prozentwerten der pH-Erholung wurde mittels des Programms SigmaPlot der IC_{50} -Wert der jeweiligen Substanz für die einzelnen NHE-Subtypen berechnet.

45

50

55

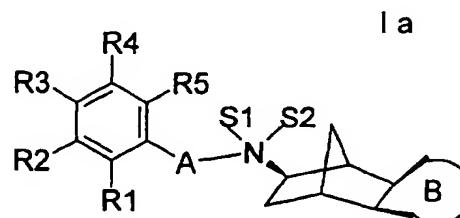
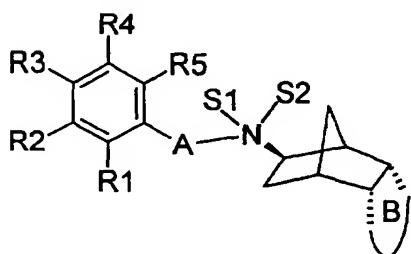
60

65

Beispiel	Ratten-NHE3 IC_{50} [μM]
5	0,81
(+)-6	0,5
(-)-6	1
10	0,9
9	5
8	70
7	31

Patentansprüche

1. Substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel Ia,



worin bedeuten:

A (C_1 - C_4)-Alkylen;

S1 ein freies Elektronenpaar oder (C_1 - C_4)-Alkyl;

S2 (C_1 - C_4)-Alkyl oder H;

wobei, wenn S1 und S2 Alkyl bedeuten, X^- in der resultierenden Gruppierung $[-N^+(S1S2)-X^-]$ einem physiologisch akzeptablen Anion oder Trifluoracetat entspricht;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring, der mit Oxo, Hydroxy, (C_1 - C_4)-Alkoxy und (C_1 - C_4)-Alkyl einfach oder mehrfach unabhängig voneinander substituiert sein kann;

und

R1, R2, R3, R4 und R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO_2 , Amidino, $-CO_2R(11)$, $-CONR(11)R(12)$, $-SO_2R(11)$, $-SO_2NR(11)R(12)$, (C_1 - C_4)-Alkyl, (C_1 - C_4)-Alkoxy, (C_1 - C_4)-Alkoxy(C_1 - C_4)-alkyl, (C_1 - C_4)-Alkoxy-(C_1 - C_4)-alkyloxy, Hydroxy-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_3 - C_7)-Cycloalkoxy oder Phenoxy,

wobei Phenyl unsubstituiert ist oder substituiert mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander sind, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, Cl, Br und Methoxy;

Amino, (C_1 - C_4)-Alkylamino, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino, Amino-(C_1 - C_4)-alkyl, Di-(C_1 - C_4)-alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl, (C_1 - C_4)-Alkylamino-(C_1 - C_4)-alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12 unabhängig voneinander H oder (C_1 - C_4)-Alkyl,

DE 199 60 204 A 1

wobei die Wasserstoffatome in den Alkyresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

oder

5 R1 und R2, R2 und R3, R3 und R4 oder R4 und R5 jeweils gemeinsam eine Gruppe -O-(CH₂)-O-;

n 1 oder 2;

und

die jeweils verbleibenden Reste R1, R2, R3, R4 oder R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, Amidino, -CO₂R(11), -CONR(11)R(12), -SO₂R(11), -SO₂NR(11)R(12), (C₁-C₄)-Alkyl, (C₁-C₄)-Alkoxy, (C₁-C₄)-

10 Alkoxy-(C₁-C₄)-alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkoxy, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl, Amino, (C₁-C₄)-Alkylamino, Di-(C₁-C₄)-al-

kylamino, Amino-(C₁-C₄)-alkyl, Di-(C₁-C₄)-alkylamino-(C₁-C₄)-alkyl, (C₁-C₄)-Alkylamino-(C₁-C₄)-alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkyresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12 unabhängig voneinander H oder (C₁-C₄)-Alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkyresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können

15 r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist, sowie deren pharmazeutisch verträgli-

che Salze.

2. Verbindungen der Formel I oder Ia nach Anspruch 1 mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anellierte-

20 Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anellierte Fünfring der Formel Ia, in der be-

deuten:

A (C₁-C₂)-Alkylen

S1 freies Elektronenpaar oder Methyl,

S2 H;

25 B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;

R1, R2, R3, R4 und R5 unabhängig voneinander H, Amino, Hydroxymethyl, OH, Methoxy, F, Cl, Br oder Iod;

oder

R2 und R3 gemeinsam -O-CH₂-O-; und

die verbleibenden Reste R1, R4 und R5 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, (C₁-C₂)-Alkoxy,

30 Amino, (C₁-C₂)-Alkylamino oder Di-(C₁-C₂)-alkylamino,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkyresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

3. Verbindungen der Formel I oder Ia nach Anspruch 1 und 2 mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anellierte-

tem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anellierte Fünfring der Formel Ia, in der

35 bedeuten:

A (C₁-C₂)-Alkylen;

S1 freies Elektronenpaar;

S2 H;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;

40 R1, R3 und R5 Wasserstoff; und

R2 und R4 unabhängig voneinander H, Methoxy, F oder Cl; oder

R2 und R3 gemeinsam -O-CH₂-O-; und

R1, R4 und R5 Wasserstoff;

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

4. Verbindungen der Formel I oder Ia nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 mit exo-konfiguriertem

Stickstoff und endo-anellierte Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anellierte

45 Fünfring der Formel Ia, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um folgende Verbindungen handelt:

exo/endo-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin;

50 exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(rac)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

55 exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxybenzyl)-amin,

exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und

exo/endo-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin

sowie deren pharmazeutisch akzeptable Salze.

5. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, mit exo-ständigem Amin und

endo-anellierte Ring, welche sind:

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

60 exo/endo-(rac)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

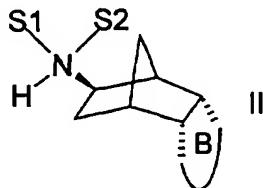
exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und

exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

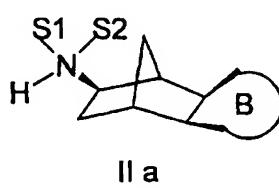
sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

6. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I oder Ia nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Verbindung der Formel II oder IIa



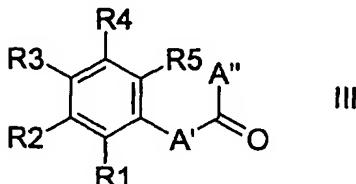
5



10

mit einer Verbindung der Formel III in Gegenwart geeigneter Reduktionsmittel und möglicherweise auch Lewis-Säuren direkt zu Verbindungen der Formel I oder Ia umsetzt,

15



20

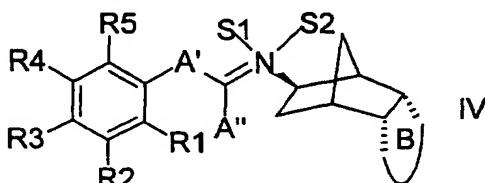
worin S1, S2, B, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig von einander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe soviele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A;

25

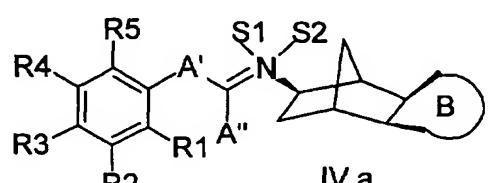
oder

b) das aus Verbindungen der Formeln II oder IIa und III gebildete Intermediat der Formel IV oder IVa

30



IV



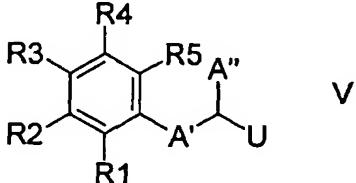
35

isoliert und dann mit geeigneten Reduktionsmitteln in die Verbindungen der Formel I oder Ia überführt,

40

oder

c) eine Verbindung der Formel II oder IIa mit einem Alkylierungsmittel der Formel V,



V

45

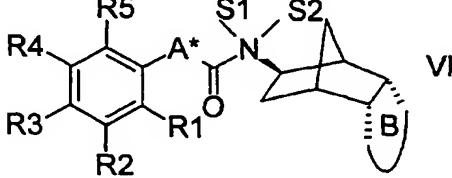
in der U für eine nukleophil substituierbare Gruppe steht – wie z. B. Halogen, Rest eines reaktionsfähigen Esters, quartäre Ammonium Salze – und die anderen Reste wie oben beschrieben definiert sind, aber hier dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe das Kohlenstoffatom, an das U gebunden ist, entspricht,

50

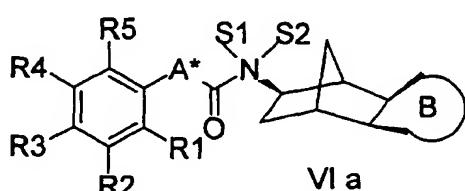
umsetzt,

oder

d) Carbonsäureamide der Formel VI oder VIa,



VI



60

65

worin A* einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und die anderen Reste, wie oben beschrieben, definiert sind,

zu den entsprechenden Aminen reduziert;

oder

e) Verbindungen der Formel I oder Ia, in denen S1 einem freien Elektronenpaar und S2 Wasserstoff entspricht, mit Alkylierungsmitteln der Formel VII,

5

S*-U VII

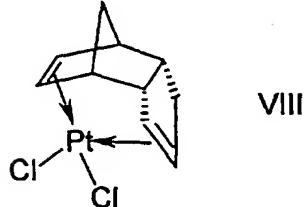
worin S* (C_1 - C_4)-Alkyl bedeutet und U oben beschriebene Bedeutung besitzt, mono- oder dialkyliert, so daß aus dieser Umsetzung tertiäre Amine oder quartäre Ammoniumsalze hervorgehen;

10

oder

f) einen Dicyclopentadienylplatin-Komplex der Formel VIII,

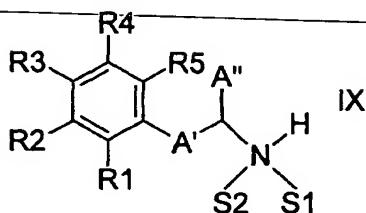
15



20

mit Aminen vom Typ der Formel IX

25



30

worin S1, S2, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C_1 - C_3)-Alkyl und A'' H oder (C_1 - C_3)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das das Stickstoffatom gebunden ist, soviele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A,

35

zu Verbindungen der Formel I umgesetzt und anschließend das gebildete Zwischenprodukt reduziert; und dass man gegebenenfalls in das pharmazeutisch verträgliche Salz überführt.

7. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Atemantriebs.

40

8. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe der Apnoe.

9. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder zur Prophylaxe von akuten und chronischen Nierenerkrankungen, besonders des akuten Nierenversagens und des chronischen Nierenversagens.

45

10. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen der Darmfunktion.

11. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen der Gallenfunktion.

50

12. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von ischämischen Zuständen des peripheren und zentralen Nervensystems und des Schlaganfalls.

13. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von ischämischen Zuständen peripherer Organe und Gliedmaßen.

55

14. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Schockzuständen.

15. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zu Einsatz bei chirurgischen Operationen und Organtransplantationen.

16. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Konservierung und Lagerung von Transplantaten für chirurgische Maßnahmen.

60

17. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt.

18. Verwendung einer Verbindung I oder Ia nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Fettstoffwechsels.

19. Heilmittel, enthaltend eine wirksame Menge einer Verbindung I oder Ia nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5.

65